

Ж.Л. Малахова, А.В. Ефремов

ФЕТАЛЬНЫЙ АЛКОГОЛЬНЫЙ СИНДРОМ: ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ

ГБОУ ВПО Уральский государственный медицинский университет Минздрава России,
Кафедра детских болезней лечебно-профилактического факультета

В настоящее время установлено, что этанол, независимо от сроков беременности, быстро переходит через плацентарный барьер. При этом его концентрация в крови плода соответствует таковой в крови матери.

Помимо этого, этанол обнаруживается в амниотической жидкости. У пьющих беременных алкоголь более длительно сохраняется в амниотической жидкости, чем в крови. Тем самым в организме плода создается «резервуар» для алкоголя, который и будет определять пролонгированное неблагоприятное воздействие на него.

Этанол продолжительное время циркулирует в крови и тканях плода и новорожденного в неизменном виде, поскольку не происходит его разрушение в печени [2]. Данное обстоятельство обусловлено отсутствием или недостаточностью фермента алкогольдегидрогеназы (АДГ). Его продукция печенью плода начинается только со второй половины беременности, причем в первые годы жизни вырабатывается в незначительном количестве. Кроме того, не только печень, но и эмбриональные ткани не имеют достаточно зрелых ферментных систем, способных метаболизировать алкоголь.

В разборе вопросов наследственного характера нет выявления четкой и классической генетической детерминации в развитии соматических, неврологических и психических нарушений, свойственных ФАС. Хотя конкретные гены и не выявлены, биологи и генетики говорят о существовании определенных генетических детерминант, участвующих в формировании ферментных систем, регулирующих обмен C_2H_5OH . В частности, уже длительный период большой интерес ученых привлекает система алкогольдегидрогеназ (АДГ). Например, материнская аллель дегидрогеназы алкоголя $ADH2*3$ более эффективно расщепляют алкоголь и уменьшают риск развития ФАС [3]. Имеются данные, свидетельствующие о повреждении генетического аппарата половых клеток под влиянием алкоголя [4]. Повреждение генома половых и зародышевых клеток может наблюдаться на любой стадии их развития. Основные мутагенные эффекты свя-

зывают с ацетальдегидом, который способен повреждать ДНК и увеличивать частоту мутаций.

Интересно, что приведенные данные относятся к восприимчивости к алкоголю в целом, не освещая частоту алкогольных эмбриофетопатий среди популяций.

В этом плане нами была предпринята попытка уточнить активность АДГ1В и альдегидгидрогеназы (АльДГ) через выявление мутаций алкогольного цитохрома – $CYP2E1$. Было обследовано 20 детей, из которых у 10 был диагностирован ФАС и 10 нормально развивающихся детей (группа сравнения). Данные приведены в таблице 1.

Таблица 1
Результаты исследований по выявлению точечных мутаций в геноме (алкогольная зависимость)

Мутация, ген	Дети с ФАС, n = 10	Группа сравнения, n = 10
Алкогольного цитохрома $CYP2E1$	нормальная гомозигота - 10 гетерозигота - 0 мутантная гомозигота - 0	нормальная гомозигота - 10 гетерозигота - 0 мутантная гомозигота - 0
Алкогольдегидрогеназы $ADH1B$	нормальная гомозигота - 10 гетерозигота - 0 мутантная гомозигота - 0	нормальная гомозигота гетерозигота мутантная гомозигота
Альдегидрогеназы $ALDH2$	нормальная гомозигота - 10 гетерозигота - 0 мутантная гомозигота - 0	нормальная гомозигота - 10 гетерозигота - 0 мутантная гомозигота - 0

Как это становится очевидным из приведенных показателей, различия отсутствуют.

Практически нет исследований, сопряженных с восприимчивостью алкоголя беременными женщинами, новорожденными и детьми раннего возраста.

И, тем не менее, ФАС существует, существуют клинические наблюдения, увязывающие ФАС с потомственным воздействием алкоголя и генетически детерминированные изменения в ферментах, регулирующих обмен этанола. Поэтому мы склонны высказаться в пользу эпигенетической перестройки в популяции пьющих людей и их потомков.

При отсутствии данных о признаках канонического понимания наследования (в т.ч. чувствительности к алкоголю) следует внимательнее присмотреться и, может быть, согласиться с существованием вариационной и эпигенетической форм наследственной изменчивости, связанных не с изменением в тексте ДНК, а в экспрессии гена. Такие эффекты и наследуемы и, в тоже время, обратимы.

Так по результатам эксперимента ряда исследователей было выявлено эпигенетическое перепрограммирование за счет гиперметилирования этанолом ДНК, ДНКацетилтрансферазы, модификацией алкоholes гистона и маленьких неРНК [5-6].

В сумме, изменения при эпигенетическом программировании могут лежать в основе тератогенных последствий воздействия этанола, как до концепции, так и в постконцептуальном периоде (предвнедрение и гастрюляция). Таким образом, в процессе эмбриогенеза всегда взаимодействуют два фактора – наследственный, обусловленный генотипом данной особи и эпигенетический в тех случаях, когда дифференцировка происходит после воздействия на клетки (или клеточные популяции) какого-то стимула извне (например, алкоголя). Установление роли эпигенетических изменений в инициации ФАС может более четко и строго утвердиться в разработке методов первичной и вторичной профилактики.

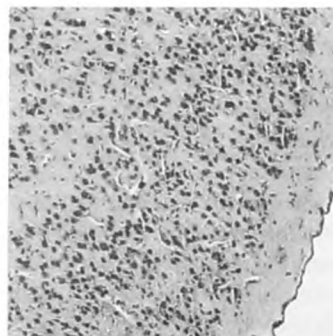
Тот факт, что патогенез ФАС тесно связан с эпигенетическими изменениями и не затрагивает структуры и потенциал генов, но приводит к наследуемой модификации их экспрессии и вселяет определенную прогностическую уверенность.

Важнейшими этапами раннего нейроонтогенеза являются образование в перивентрикулярной зоне путем митоза более сотни миллиардов нейронов из нескольких десятков клеток-прародительниц; миграция молодых нейронов к местам своего назначения; рост аксона к клетке-мишени; рост и ветвление дендритного дерева; завершение синаптогенеза (процесса образования синаптических межклеточных контактов) с последующим отбором наиболее эффективных функциональных связей. На этих этапах происходит интенсивное размножение и дифференцировка клеток глии, которые активно участвуют в регуляции процесса внутриутробного нейроонтогенеза.

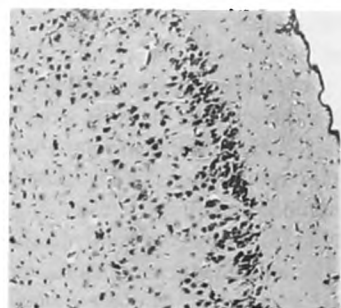
Этанол меняет скорость деления клеток, уменьшает синаптическую плотность в молеку-

лярном слое коры, индуцирует преждевременную трансформацию радиальной астроглии в астроциты, в результате чего нарушается миграция молодых нейронов к своему месту в мозге [7].

Подтверждение этому мы получили и в наших исследованиях на экспериментальных животных. Животные были разделены на две группы: 1 – основная (крысы, получавшие вместо воды в течение 1 месяца до беременности и в течение всей беременности 15% раствор спирта), 2 - контрольная (интактные животные). У полученного потомства в возрасте одного месяца для светооптического исследования брали фрагменты головного мозга. Уже визуально у части животных наблюдались пороки развития глаз, ушей, черепа. В 1-ой опытной группе были найдены существенные изменения: кора имела очаги разрежения нервных клеток, чередовавшихся по выраженности и распространенности (рис. 1). Участки разрежения локализовались преимущественно в средних слоях коры, но встречались единичные зоны разрежения, которые шли через все слои. Были найдены дистрофические изменения нейронов, главным образом, в виде хроматолиза в средних слоях и пикнотических изменений в верхних слоях.



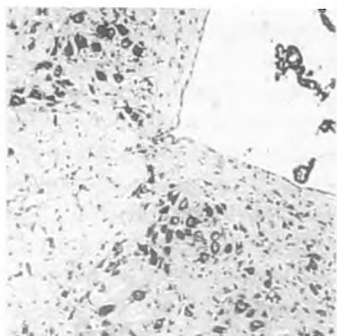
а. контрольная группа



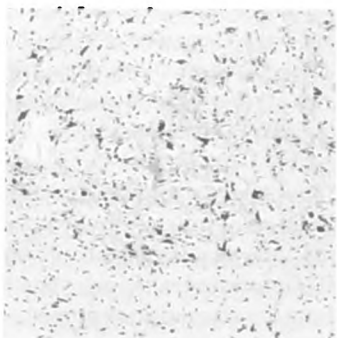
б. основная группа

Рис. 1. Морфологическая характеристика коры больших полушарий

В ядрах гипоталамуса (рис. 2) также отмечалось разрежение нервных клеток и их дистрофические изменения. Преобладал гиперхроматоз и пикнотические изменения, а также субтотальное снижение (иногда полное отсутствие) нейрокринных гранул.



а. контрольная группа



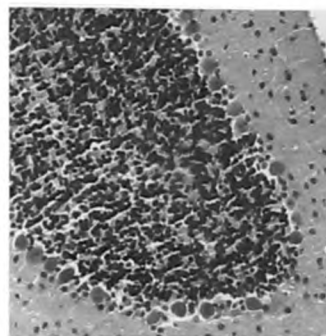
б. основная группа

Рис. 2. Морфологическая характеристика ядер гипоталамуса

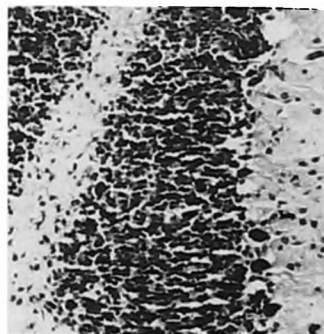
Для мозжечка (рис. 3) было характерным истончение извилин. В зернистом слое наблюдались полосы разрежения и резкое уменьшение количества корзинчатых клеток. Сохраненные клетки располагались на разных уровнях и неравномерно. В них преобладали гиперхроматоз и пикнотические изменения.

При гистологическом исследовании тканей мозга в контрольной группе животных не удалось отметить каких-либо существенных отклонений от нормы. В коре была сохранена четкая стратификация нервных клеток, отмечался легкий периваскулярный отек в виде непостоянного расширения пространства Вирхова-Роден-Снесарева. Это явление, по-видимому, следует рассматривать как результат острой гипоксии, связанной с эфтаназией животных. В ядрах гипоталамической области нервные клетки располагались равномерно, в их цитоплазме мож-

но было увидеть светлые секреторные гранулы, свидетельствующие о сохранности нейрокринии. В коре мозжечка зернистый слой был хорошо выражен, корзинчатые нейроны (клетки Пуркинье) располагались на одном уровне по границе зернистого слоя и белого вещества. Они имели округлые очертания цитоплазмы, четко выраженное ядро и ядрышко.



а. контрольная группа



б. основная группа

Рис. 3. Морфологическая характеристика мозжечка

Таким образом, в опытной группе животных отмечались отчетливые морфологические изменения в виде нарушения распределения и дистрофических явлений в нервных клетках различных функциональных структур головного мозга. Следовательно, эти морфологические признаки могут учитываться как результат воздействия на организм длительной алкогольной интоксикации.

Перечисленные выше отклонения как морфологического, так и функционального типа: низкая масса плода и новорожденного, задержка развития мозговых структур и т.п. ставят в ряд необходимых исследования уровня факторов роста (ФР). К настоящему времени известно, что в организме человека существует единая интегрирующая система ФР, играющая важную роль в процессах роста и дифференцировки,

межклеточной кооперации, ангиогенезе, предопределяющая будущую морфологию (развитие) плаценты и плода [8].

Несмотря на огромное разнообразие ФР и колоссальную разницу клеточных ответов, можно сформулировать общие правила регуляции: для поддержания жизни нормальных клеток высших организмов абсолютно необходимо их взаимодействие с уникальной комбинацией специфических ростковых факторов; одна и та же клетка может взаимодействовать с несколькими ФР: один и тот же ФР может оказывать влияние на разные типы клеток; уровень экспрессии данного ФР, а также восприимчивость и характер ответа являются специфичными для каждого данного типа клеток:

В настоящее время описано несколько десятков ФР, многие из которых оказывают влияние на функцию репродуктивной системы женщины [9], играют важную роль в эмбриогенезе, в частности, в процессах дифференцировки эмбриональных тканей. Отмечено, что в раннем эмбриогенезе перестройка и миграция клеток зародыша происходит с участием трансформирующего фактора роста (TGF- β). В экспериментах, проведенных Y. Ogura и соавт. [10], подтверждено участие тромбоцитарного ФР в эмбриогенезе у мышей. Велика роль ФР в органогенезе. По данным M. Faxon и соавт. [11], патология плаценты при ЗВУРП связана с повреждениями плацентарных рецепторов эпидермального ФР (ЭФР).

Собственные исследования показали, что TGF- β 1 у беременных женщин, имеющих пристрастие к алкоголю, по концентрациям десятикратно превышает таковые у абстинентных беременных: 71, 7 нг/мл и 6,6 нг/мл соответственно (средние показатели). Теоретически следовало бы ожидать снижение TGF- β 1. Повышение же, очевидно, связано с имеющимся блоком рецепторов к ФР, в результате действия этанола.

Убедительно подтвердило эту тенденцию экспериментальное исследование на крысах. При эксперименте на животных исключалось возможное влияние таких состояний, как гестозы, патология репродуктивной системы, экстрагенитальные заболевания, которые часто сопутствовали беременности женщин, употребляющих алкоголь. Обследуемая выборка составила 45 животных, последние были разделены на две группы: 1 – основная (животные, получавших вместо воды в течение 1 месяца до беременности и в течение всей беременности 15% раствор спирта), 2 - контрольная (интактные крысы). В

результате были получены статистически значимые различия в значениях TGF- β 1: в опытной группе $M = 187,9$ нг/мл, в контрольной $M = 129,7$ нг/мл, $t = 2,68$, $p < 0,02$.

TGF- β 1 является ингибитором роста клетки, играет важную роль в процессе эмбриогенеза и развития черепа и, по нашим данным, повышается при злоупотреблении алкоголем во время беременности. И хотя этот вопрос мало изучен и требует дальнейшего осмысливания, параллелизм показателей фактора роста у беременных женщин и опытных животных позволяет высказаться о дефектности рецепторного аппарата клеток-мишеней. Рецепторы TGF- β активируются путем фосфорилирования цитоплазматических медиаторных белков Smad. Smad – группа родственных внутриклеточных белков, передающих сигнал в ядро от сверхсемейства TGF- β . Алкоголь, по-видимому, способен блокировать проведение сигнала, в результате чего нарушается рост и миграция клеток и активизируется апоптоз. Нужно конкретизировать это звено патогенеза: возможно фетоплацентарная недостаточность \rightarrow ЗВУРП и маловесность \rightarrow органные изменения.

Также в литературе имеются данные, которые свидетельствуют о влиянии этанола на атрофию рецепторов инсулиноподобного фактора роста (IGF) [12]. Примечательно, что уровни IGF-1 и IGF-2 совпадают со степенью потери веса мозга. В сопоставлении с нашими результатами исследования TGF- β 1, также свидетельствующими о дефектности рецепторного аппарата, позволяют расценивать эти сдвиги, как еще один патогенетический механизм формирования ФАС.

Алкоголь включает механизмы апоптоза путем блокирования протективных эффектов ФР нервных клеток. Как уже говорилось выше, из-за токсического воздействия этанола нейроны неправильно располагаются в мозге и не обеспечивают полноценность своих связей, как в качественном, так и в количественном отношении. Они незамедлительно уничтожаются. Механизмы такого уничтожения могут быть различными. Описано не менее 6 форм клеточной гибели под влиянием внешней и внутренней среды: апоптоз, автолизис, аноклиз, парптоз, автофагоцитоз, некроз. При алкоголизме этот феномен близко соприкасается с апоптозом.

Таким образом, проведенные нами исследования свидетельствуют о том, что этанол является биологически активным тератогеном, вызывающим обширные токсические и альтернатив-

ные реакции при значительных и длительных передозировках в эксперименте у животных и у человека.

На основании полученных результатов клинических наблюдений и проведенных экспериментальных исследований можно сделать несколько предположений: во-первых, этанол является ксенобиотиком с выраженным тератогенным эффектом; во-вторых, направленность его действия имеет модулирующее тормозное направление.

В этой концептуальной цепочке: эпидемиология – этиология – четко очерченный клинический комплекс (именуемый ФАС), ясно проявляется механизм супрессивного влияния на рост тканей, их программированное развитие, связанный с концентрации TGF-β1 в крови у абстинентных и алкоголизирующих ситуациях.

Исходя из этих положений, становится возможным объяснение комплекса клинических данных, свойственных новорожденным с ФАС: ЗВУРП, фациальные отклонения, снижение весо-ростовых темпов, изменения со стороны ЦНС. Эти же положения вполне применимы к объяснению аномалий плаценты и плода на самых ранних этапах беременности.

В перечисленных звеньях концепции формирования ФАС не определена роль генетического фактора. Из литературы известно обнаружение «дефектной» АДГ1, обеспечивающей высокий уровень ацетальдегида при приеме алкоголя, но это больше относится к подбору индивидуумов в группу риска предрасположенности к алкоголизму. В отношении частоты ФАС среди подобных носителей АДГ данных нет. Наши исследования также не обнаружили подобных связей.

При изучении нами активности АДГ1В и АльДГ через выявление мутаций алкогольного цитохрома - CYP2E1, было обследовано 20 детей. При этом у 10 имелся ФАС и 10 детей были типичными нормотрофиками. Результаты по выявлению точечных мутаций в геноме (алкогольная зависимость) оказались отрицательными.

По-видимому, следует больше надеяться на феномены эпигенетического плана. Дальнейший ход генетических исследований позволит конкретизировать описание фенотипов, соответствующих высокой предрасположенности к заболеванию.

Таким образом, на основании проведенных клинических и экспериментальных исследований можно сделать вывод о наличии группы детей с выраженной клинико-функциональной

депривацией, тесно связанной с антенатальным и перинатальным воздействием этанола. Именно многокомпонентность звеньев патогенеза во многом распределенных по времени (преконцептуальный, внутриутробный, неонатальный и постнатальный периоды) определяют клиническую картину. Отсюда и стратегия в отношении исходов, абилитации и коррекция тератогенных эффектов алкоголя.

Литература

1. Ахмадеева Э.Н., Алехин Е.К., Хуссамова. Алкогольный синдром плода. Кафедра фармакологии БГМУ. <http://www.cirota.ru/forum/view.php?subj=76940&order=desc>.
2. Ахмадеева Э.Н. Алкогольный синдром плода: обзор // Здравоохранение Башкортостана. – 1997. – № 6. – С. 46–51.
3. Satre M.A., Žgombic-Knight M., duster G. The Complete structure of human class IV alcohol dehydrogenase (retinol dehydrogenase) determined from the AND gene// J. Biol. Chem.-1994.-V.269. N 22.-P.15606-15612.
4. McCover D.G., Thomasson H.R., Martier S.S. et al. Alcohol dehydrogenase - 2*3 allele protects against alcohol-related birth defect among African Americans// J.Pharmacol. Exp.Ther.-1997.- Vol. 283.- P.1095-1101.
5. Birley A.J., Whitfield J.B., Neale M.C. et al. genetic time-series analysis identifies a major QTL for in vivo alcohol metabolism not predicted by in vitro studies of structural protein polymorphism at the ADH1B or ADH1C loci// Behav. Genet.-2005.-V.35. N 5.-P. 509-524.
6. Watanabe J., Hayashi S., Kawajiri K. Different regulation and expression of the human CYP2E1 gene due to RsaI polymorphism in the 5' flanking region// J.Biochem.-1994.-V.116. N 2.-P.321-326.
7. Lindsley TA, Kerlin AM, Rising LJ. Time-lapse analysis of ethanol's effects on axon growth in vitro. Brain Res Dev Brain Res 147:191–199, 2003.
8. Cross M., Dexter T.M. Cell 64, 1991, 271
9. Khaliq A., Li X.F., Shams M., Sisi P., Acevedo C.A., Whittle M.J., Weich H., Ahmed A. Localization of placenta growth factor (PLGF) in human term placenta. Growth Factors 1996; 13: 243–250.
10. Ogura Y., Takakura N., Yoshida H., Nishikawa S. Essential role of platelet – derived growth factor receptor Alpha in the development of the intraplacental yolk sac sinus of Duval in mouse placenta. Biol Reprod 1998; 58: 1: 65–72.
11. Faxen M., Nastell J., Blanck A. et al. Altered mRNA expression pattern of placental epidermal growth factor receptor (EGFR) in pregnancies complicated by preeclampsia and/or intrauterine growth retardation. Am J Perinatol 1998; 15: 1: 9–13.
12. Hill D.J., Petrik J., Arany E. Growth factors and the regulation of fetal growth. Obstst Gynecol 1998; 92: 2: 179–183.